

مجله پزشکی دانشگاه علوم پزشکی تبریز

دوره ۳۰ شماره ۱ بهار ۱۳۸۷ صفحات ۱۳۷-۱۳۳

مقایسه واکنش هیستوپاتولوژیک دو نوع Mineral Trioxide Aggregate خاکستری در بافت همبند موش

دکتر سپیده وثوق حسینی: استادیار آسیب شناسی دهان و فک و صورت دانشکده دندانپزشکی تبریز و مرکز تحقیقات نانو تکنولوژی دارویی، دانشگاه علوم پزشکی تبریز

دکتر مهرداد لطفی: دانشیار اندودونتیکیس، دانشکده دندانپزشکی تبریز، مرکز تحقیقات نانو تکنولوژی دارویی، دانشگاه علوم پزشکی تبریز: نویسنده رابط
E-mail: mehrlotfi@yahoo.com

دکتر مهران مسگری: دکتری دامپزشکی، مرکز تحقیقات دارویی دانشگاه علوم پزشکی تبریز

دریافت: ۸۵/۱۰/۹، پذیرش: ۸۶/۲/۱۹

چکیده

زمینه و اهداف: Mineral Trioxide Aggregate, MTA بعنوان یکی از مواد پرکننده انتهای ریشه سازگاری زیستی خوبی دارد و به دو نوع سفید و خاکستری ساخت خارج و داخل موجود است. هدف از این مطالعه بررسی واکنش بافت همبند به دو نوع تجاری MTA خاکستری میباشد.

روش بررسی: ۴۰ موش صحرایی به ۵ گروه ۸ تایی تقسیم شدند. لوله های پی اتیلن پر شده با MTA خاکستری خارجی، ساخت داخل و لوله های خالی بعنوان کنترل در بافت همبند زیر جلدی کاشته شد. نمونه ها پس از ۷، ۱۵، ۳۰، ۶۰ و ۹۰ روز مورد بررسی هیستوپاتولوژیک قرار گرفت و بدین صورت گروه بندی شدند. صفر، بدون سلول التهابی، بدون واکنش. یک، کمتر از ۲۵ سلول التهابی، واکنش خفیف. دو، ۲۵ الی ۱۲۵ سلول التهابی، واکنش متوسط. سه، بیش از ۱۲۵ سلول التهابی، واکنش شدید. از تست آماری Kruskal-Wallis و ANOVA دو طرفه در سطح معنی داری $p > 0/05$ استفاده شد.

یافته ها: بطور کلی واکنش التهابی با گذشت زمان در تمامی گروه ها کاهش یافت. گروه های آزمایشی در مقطع زمانی ۷ روز التهاب متوسط تا شدید داشتند که با گروه کنترل که التهاب خفیف تا متوسط داشت، اختلاف آماری معنی داری داشت ($p = 0/04$). بین گروه های آزمایشی و گروه کنترل در مقاطع زمانی دیگر اختلاف آماری معنی داری مشاهده نشد ($P < 0/05$).

نتیجه گیری: واکنش التهابی سلولی بافت همبند زیر جلدی موش به MTA خاکستری خارجی و نوع ساخت داخل یکسان است.

کلید واژه ها: درمان ریشه، مواد پرکننده انتهای ریشه، سازگاری نسجی

مقدمه

سازگاری نسجی مناسبی دارد و ساخته شدن سمان روی آن نشان داده شده است (۳). کلسیفیکاسیون دیستروفیک در بافت همبند مجاور با آن دیده می شود (۴). از طرف دیگر MTA ماده ای گران قیمت بوده و براحتی در دسترس نمی باشد (۵). بنابراین لزوم جایگزینی آن با ماده مشابه دیگری که به راحتی در دسترس بوده و ارزان قیمت باشد منطقی بنظر می رسد. آنالیز کیفی MTA خاکستری تولید داخل توسط سازمان پژوهش های علمی و صنعتی ایران، با MTA خارجی ساخت کارخانه Tulsa Dental مورد ارزیابی قرار گرفته و مشابهت آن دو تایید شده است (۴ و ۵).

MTA مخلوطی از دی کلسیم سیلیکات، تری کلسیم سیلیکات، تری کلسیم آلومینات و تتراکلسیم آلومینوفریت است که از اجزای اصلی آن به شمار می رود و پس از ترکیب با آب، ژل کلوییدال ایجاد می کند که به تدریج سخت می شود (۱). MTA از زمان معرفی کاربردهای متنوعی در جهت ترمیم ریشه و استخوان در اندودونتیکیس پیدا کرده است. از موارد کاربرد MTA می توان به درمان اپکس ناکامل، پوشش مستقیم پالپ، ترمیم سوراخ شدگی های داخل پالپ چمبرو داخل کانال که به محیط دهان اکسپوز نیست و ماده پرکننده انتهای ریشه اشاره کرد (۲). مطالعات نشان می دهد که MTA خاکستری ماده ای است که

پس از ۱۵،۷،۳۰،۳۰،۶۰،۹۰ روز به ترتیب یک گروه هشت تایی از حیوانات بیهوش و ناحیه قرارگیری لوله به اندازه مستطیلی به طول ۲ و عرض ۱/۵ سانتی متر بصورت enblock شامل پوست و فاسیای عضلات برداشته شد. نمونه ها بمدت ۲ هفته در فرمالین بافر ۱۰ درصد (Merck, Darmstadt, Germany) نگهداری و سپس جهت تهیه لام ارسال گردید. پس از تهیه بلوکهای پارافینی مقاطع طولی در راستای محور طولی قرارگیری تیوپها به ضخامت ۶ میکرون بطوری که از ماده مورد مطالعه عبور کند تهیه و با هوماتوکسیلین اتوزین رنگ آمیزی گردید. مقاطع با میکروسکوپ نوری (Carl Zeiss, Oberkachen, Germany) با بزرگنماییهای ۴۰x، ۱۲۵x، ۲۰۰x، ۴۰۰x بررسی شد.

تعداد سلولهای التهابی (لنفوسیت، پلاسموسیت، پلی مورفونوکلرلکوسیت، ماکروفاژ و ژانت سل) در ۱۰ منطقه جداگانه در بزرگنمایی ۴۰۰x شمارش شدند.

میانگین تعداد سلولهای التهابی برای هر ماده مورد آزمایش از مجموع تعداد سلولهای فوق در ۱۰ منطقه جداگانه محاسبه شد و واکنش بافتی هر ماده در هر دوره زمانی طبق طبقه بندی زیر رتبه بندی شد (۹).

درجه صفر: بدون سلول التهابی، بدون واکنش.

درجه یک: تعداد سلولهای التهابی کمتر از ۲۵ عدد، التهاب خفیف.

درجه دو: تعداد سلولهای التهابی بین ۲۵ تا ۱۲۵ عدد، التهاب متوسط.

درجه سه: تعداد سلولهای التهابی ۱۲۵ یا بیشتر، التهاب شدید.

جهت مقایسه درجه التهاب در بین گروهها از آزمون آماری کروسکال وایس در سطح معنی داری $P > 0.05$ و جهت مقایسه شدت التهاب در فواصل زمانی مختلف از آزمون ANOVA دو طرفه استفاده شد.

یافته ها

بطور کلی در هیچ یک از نمونه ها نکروز بافتی مشاهده نشد و باگذشت زمان از شدت واکنش التهابی در تمامی گروهها کاسته شد بطوریکه اگرچه واکنش التهابی پس از یک هفته در بین گروههای آزمایشی تفاوت معنی داری نداشت ($P < 0.05$) ولی این تفاوت در مقایسه با گروه کنترل معنی دار بود ($P = 0.05$). در دوره های زمانی ۱۵ روز، ۱، ۲ و ۳ ماه بین گروه کنترل و گروههای آزمایشی تفاوت معنی دار وجود نداشت (جدول) (شکل).

این ماده قیمت به مراتب پایین تری داشته و دسترسی به آن آسان است. ریزش میکروبی نوع خارجی با نوع داخلی مقایسه شده و تفاوتی مشاهده نشده است (۶). نظر به اینکه واکنش بافتی یکی از عوامل مهم در انتخاب مواد دندانپزشکی است و تا کنون مطالعه ای در راستای مقایسه واکنش بافتی MTA خاکستری تولید داخل و خارج انجام نگرفته است هدف از این مطالعه مقایسه واکنش بافت همبند به MTA خاکستری تولید داخل و خارج بود.

مواد و روش ها

در این مطالعه حیوانات مورد آزمایش با رعایت استانداردهای مرکز تحقیقات دارویی - کاربردی دانشگاه علوم پزشکی تبریز مورد بررسی قرار گرفتند.

۴۰ موش صحرایی نر بالغ به وزن تقریبی ۲۵۰ گرم با داروی بیهوشی دی اتیل اتر (پارس شیمی - تهران - ایران) با تکنیک Anesthetic chamber Induction بیهوش شدند. برای سنجش بیهوشی حیوان از Pedal Reflex استفاده شد به این ترتیب که اندام تحتانی حیوان را به طرف خارج کشیده یک تحریک دردناک با نوک یک سوند یا سوزن روی پوست وارد می شد. در صورتی که حیوان عکس العمل نشان نمی داد عمق بیهوشی مناسب بود. پس از تراشیدن موی پشت آنها و تمیز کردن محل با محلول یدین ۵٪ پنج شیار به طول ۱ سانتیمتر با تیغ بیستوری شماره ۱۵ در جهت محور طولی ستون مهره ها به فاصله ۲/۵ سانتیمتر از یکدیگر ایجاد کردیم. مواد مورد آزمایش عبارت بودند از:

MTA خاکستری خارجی Pro Root MTA, Dentsply-Tulsa (Dental, OK, USA).

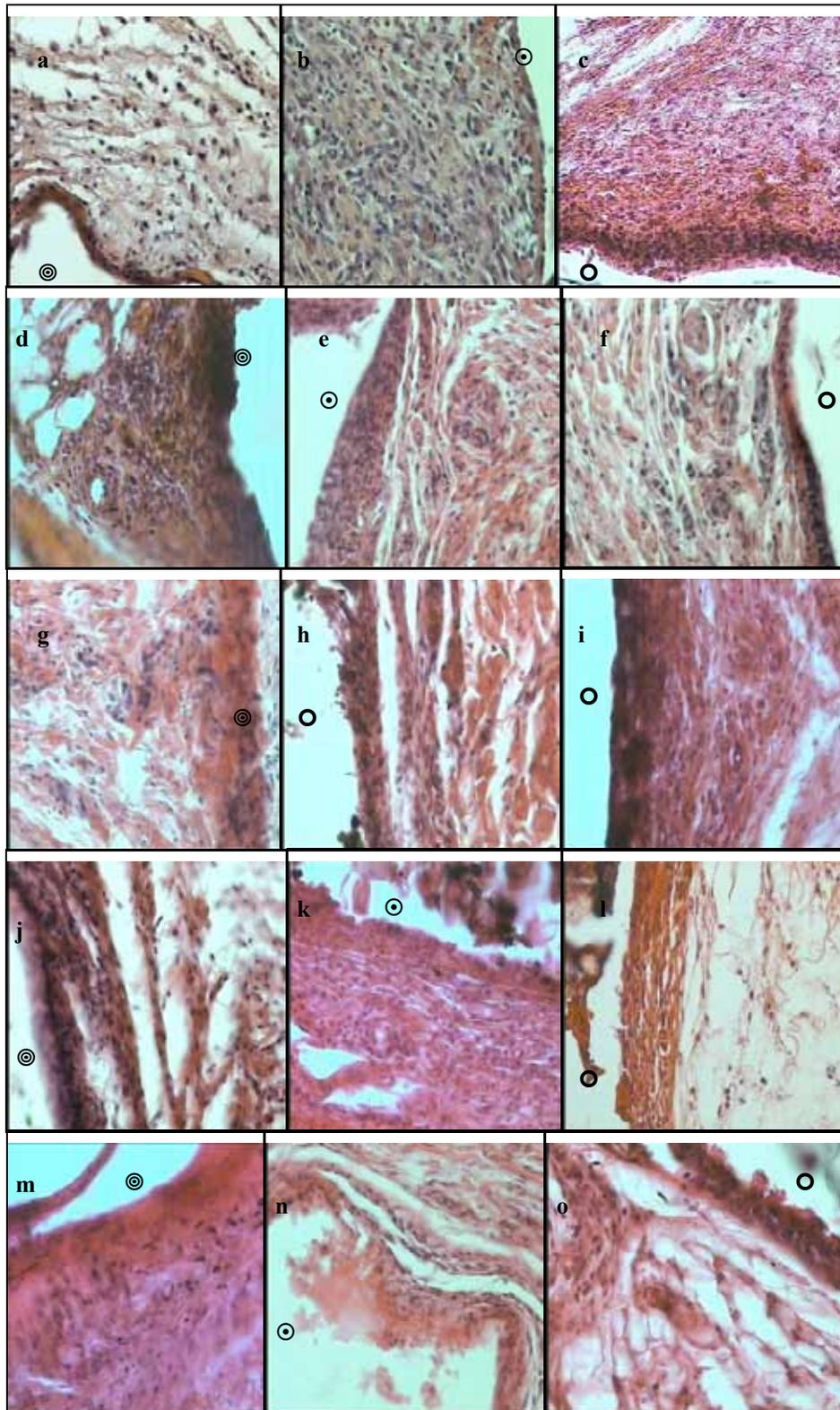
MTA خاکستری تولید داخل (Root MTA خاکستری - سلامی فر - تهران - ایران).

لوله آنژیوکت پلی اتیلنی (Vasofix, B Braun-Germany) به طول ۸ میلیتر و قطر داخلی ۰/۸ میلیتر حاوی مواد مورد آزمایش که مطابق دستور کارخانه تهیه شده بود در داخل محل برش، زیر جلد و روی فاسیای عضلات قرار داده شد. بدین صورت که به صورت تصادفی در هر یک از برش ها یکی از مواد مورد آزمایش را قرار داده و در برش سوم لوله خالی آنژیوکت پلی اتیلن به طول ۸ میلیتر و قطر داخلی ۰/۸ میلیتر بعنوان کنترل قرار گرفت. موشها به ۵ گروه ۸ تایی تقسیم شدند.

جدول: میانگین \pm انحراف معیار درجه التهاب در گروههای آزمایشی و کنترل در دوره های زمانی مورد مطالعه

دوره های زمانی		۷ روز	۱۵ روز	۳۰ روز	۶۰ روز	۹۰ روز
MTA خاکستری تولید داخل	$2/8 \pm 0/447^*$	$2 \pm 0/632$	$1/8 \pm 0/447$	$1/8 \pm 0/447$	$1/8 \pm 0/447$	$1/5 \pm 0/547$
MTA خاکستری تولید خارج	$3 \pm 0/00^*$	$2 \pm 0/632$	$1/8 \pm 0/447$	$1/8 \pm 0/447$	$1/8 \pm 0/447$	$1/5 \pm 0/534$
کنترل	$2 \pm 0/00$	$1/8 \pm 0/377$	$1/5 \pm 0/547$	$1/5 \pm 0/547$	$1/4 \pm 0/547$	$1/5 \pm 0/547$
	$P=0/04$	$P=0/96$	$P=0/761$	$P=0/709$	$P=0/942$	$P=0/942$

x تفاوت معنی دار با دیگر گروهها



تصویر ۱: تصاویر هیستوپاتولوژیک واکنش بافت همبند موش صحرایی به کاشت زیر جلدی MTA خاکستری تولید داخل (⊙) و خارج (⊙) و لوله های خالی (○) به عنوان گروه کنترل با بزرگنمایی ۱۲۵× به صورت تجمع سلولهای التهابی (لنفوسیت، پلاسموسیت، پلی مورفونوکلئولکوسیت، ماکروفاژ و ژانت سل) در فواصل زمانی ۷ روز (a,b,c)، ۱۵ روز (d,e,f)، ۳۰ روز (g,h,i)، ۶۰ روز (j,k,l)، ۹۰ روز (m,n,o). رنگ آمیزی هماتوکسیلین-انورین.

بحث

یکی از مهمترین خصوصیات ماده پرکننده انتهای ریشه سازگاری زیستی می باشد. در حال حاضر چهار روش کلاسیک متداول برای بررسی سازگاری زیستی مواد با بافتهای زنده وجود دارد که این روشها عبارتند از (۷).

۱- بررسی سمیت سلولی

۲- کاشت زیر جلدی

۳- کاشت داخل استخوانی

۴- بررسی واکنش بافتهای پری رادیکولار بصورت In Vivo در نمونه های انسانی .

روشی که در این مطالعه مورد استفاده قرار دادیم، روش ایمپلنت زیر جلدی ماده بود که طی آن، مواد مورد بررسی در داخل لوله های پلی اتیلن قرار داده شد و در بافت همبند زیر جلد موش صحرایی کاشته شد. این روش یکی از روشهای متداول جهت ارزیابی سازگاری نسجی مواد دندانپزشکی است که اولین بار در سال ۱۹۶۲ توسط Tornek و همکاران معرفی گردید (۸). کارآمدی این روش توسط Olsson و همکاران در سال ۱۹۹۸ مورد بازبینی و شرح قرار گرفت و به اثبات رسید (۱۰).

در این مطالعه ما از فاصله های زمانی ۱۵، ۳۰، ۶۰، ۹۰ و ۳۰ روز استفاده کردیم تا سیر واکنشهای التهابی ایجاد شده در مجاورت مواد مورد مطالعه را مورد بررسی قرار دهیم. انتخاب این فاصله های زمانی بر اساس استاندارد فدراسیون جهانی دندانپزشکی صورت پذیرفت که واکنش التهابی کوتاه مدت و بلندمدت را در یک مطالعه می توان بررسی کرد (۹ و ۱۱).

در این روش از شمارش سلولهای التهابی (لنفوسیت، پلاسماسل، لکوسیت های پلی مورفونوکلئر، ماکروفاژ و ژانت سل) انفیلاتره شده در نواحی مختلف مقاطع میکروسکوپی استفاده می شود. تا

کنون مطالعه ای به بررسی واکنش بافتی MTA خاکستری خارجی و تولید داخل نپرداخته است.

واکنش التهابی در هر دو گروه MTA خارجی و داخلی در هفته اول به طور معنی دار بیش از گروه کنترل بود که نشان از ایجاد واکنش التهابی در این فاصله زمانی است که احتمالاً میتواند مربوط به آزاد شدن کلسیم هیدروکساید از MTA باشد زیرا یکی از محصولات حاصل از ترکیب MTA با آب کلسیم هیدروکساید است که باعث تحریک بافتی و ایجاد التهاب می شود (۱۲). از طرفی مایع میان بافتی حاوی دی سدیم هیدروژن فسفات و دی پتاسیم هیدروژن فسفات است، بنابر این یونهای فسفر در مایع میان بافتی موجود است که می تواند عدم تفاوت واکنش التهابی MTA با گروه کنترل در فواصل زمانی ۱۵، ۳۰، ۶۰ و ۹۰ روز در این مطالعه را احتمالاً به ترکیب یونهای فسفر موجود در مایع میان بافتی با کلسیم هیدروکساید حاصل از ترکیب اولیه MTA و آب که منجر به تشکیل هیدروکسی آپاتیت می گردد و ماده ای با سازگاری زیستی بالا است، مربوط دانست (۱).

نتیجه گیری

با توجه به نتایج بررسیهای آماری مشخص شد که در این مطالعه سازگاری زیستی MTA خاکستری ساخت داخل و خارج در تمام دوره های زمانی یکسان است.

تقدیر و تشکر

از معاونت پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی تبریز که هزینه های این طرح را تقبل کردند صمیمانه تشکر می شود.

References

1. Sarkar NK, Caicedo R, Ritwik P, Moiseyeva R, Kawashima I. Physicochemical basis of the biologic properties of mineral trioxide aggregate. *J Endod* 2005; **31**(2): 97-100.
2. Torabinejad M, Chivian N. Clinical application of mineral trioxide aggregate. *J Endod* 1999; **25**(3): 197-205.
3. Thomson TS, Berry JE, Somerman MJ, Kirkwood KL. Cementoblast maintains expression of osteocalcin in the presence of mineral trioxide aggregate. *J Endod* 2003; **29**(6): 407-12.
4. نوریان، م. بررسی مقایسه ای ریزنشست باکتریایی، میان نمونه خارجی MTA و نوع تولید داخل آن به عنوان ماده پرکننده انتهای ریشه. پایان نامه دکتری دندانپزشکی ۱۳۸۰، دانشگاه علوم پزشکی رفسنجان.
5. اثنی عشری م، بلورچی ی، اسلامی ب، ستاری م. مقایسه واکنش بافتی دو ماده MTA (Pro Root) و Root MTA در بافت همبند RAT، مجله دانشکده دندانپزشکی دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی ۱۳۸۲، ویژه نامه شماره ۲۱، صص ۱۳-۶۰۱.
6. Ozbas H, Yaltirik M, Biligic B, Issever H. Reaction of connective tissue to compomer, composite, and amalgam root-end filling materials. *Int Endod J* 2003; **36**(4): 281.
7. Ingle JI, Bakland LK. *Endodontics*. 15th ed. BC Decker, Canada, 2002; PP: 571-656.
8. Tornek CD. The reaction of rat connective tissue to polyethylene tube implants. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol* 1966; **21**(3): 379-87.

9. Federation Dentaire International. Recommended standard practices biological evaluation of dental Materials. Part 4.11: Subcutaneous implantation test. *Int Endod J* 1980; **16**(2): 713-27.
10. Olsson B, Sliwowski A, Langland K. Subcutaneous implantation for the biological evaluation of endodontic materials. *J Endod* 1981; **7**(8): 355-69.
11. American National Standards Institute. Revised American National Standards Institute/American dental Association Document no. 41 For Recommended Standard Practices for Biological Evaluation of Dental Materials. New York, NY, USA: Am National Standard Institute. 1979;
12. Torabinejad M, Hong CU, MC Donald F, Pitt Ford TR. Physical and chemical properties of a new root end filling material. *J Endod* 1995; **21**(7): 349-53.